

冷冻鱼糜中金黄色葡萄球菌生长预测模型的筛选

Screening of predictive model for *Staphylococcus aureus* growth in frozen surimi

黄 潇¹ 蔡颖慧² 郭 捷¹ 赵小珍¹

HUANG Xiao¹ CAI Ying-hui² GUO Jie¹ ZHAO Xiao-zhen¹

(1. 山西省分析科学研究院, 山西 太原 030006; 2. 山西省生物研究所, 山西 太原 030006)

(1. Shanxi Academy of Analytical Science, Taiyuan, Shanxi 030006, China;

2 Biology Institute of Shanxi, Taiyuan, Shanxi 030006, China)

摘要:为建立冷冻鱼糜中金黄色葡萄球菌生长预测模型,将金黄色葡萄球菌接种到冷冻鱼糜制品中,分别采用 Gompertz 模型、Logistic 模型、Richards 模型,拟合金黄色葡萄球菌在 10, 15, 20, 25 °C 条件下的生长数据,通过残差分布以及拟合度(RSS、RSE、AIC)等统计指标,分析比较 4 种模型的拟合能力,建立各温度条件下金黄色葡萄球菌最适一级生长模型。结果表明:10 °C 条件下 Logistic 模型拟合的 RSS、RSE、AIC 值最小,分别是 0.742, 0.352, -4.458;而 Gompertz 模型在 15, 20, 25 °C 条件下拟合的 RSS、RSE、AIC 值最小,分别是 0.403, 0.259, -9.961; 0.285, 0.239, -13.089 和 0.273, 0.234, -13.473。综合比较,10 °C 条件下,冷冻鱼糜中金黄色葡萄球菌最适一级生长模型为 Logistic 模型,而 15, 20, 25 °C 适合采用 Gompertz 模型。

关键词:鱼糜;金黄色葡萄球菌;生长模型;微生物;预测模型

Abstract: In order to establish the growth model of *Staphylococcus aureus*, the frozen surimi product was inoculated with *S. aureus* and Gompertz model, Logistic model, Richards model, etc. were selected to fitting the growth data of *S. aureus* at 10, 15, 20 and 25 °C, respectively. Residual distribution and degree of fitting (RSS, RSE, AIC) analyses were used to evaluate model fitting ability and choose the optimal model for the growth of *S. aureus* in frozen surimi. The results of the comparison showed that the smallest RSS, RSE and AIC values fitted by Logistic model at 10 °C were 0.742, 0.352 and -4.458, respectively. The smallest RSS, RSE and AIC values achieved by Gompertz model were 0.403, 0.259, -9.961; 0.285, 0.239, -13.089 and 0.273, 0.234, -13.473, respectively. Compared comprehensively, the optimal growth model of *S. aureus* in the frozen Surimi was Logistic and Gompertz model was appropriate for 10 °C and 15 °C, 20 °C, 25 °C, respectively.

Keywords: surimi; *Staphylococcus aureus*; growth model; microor-

ganism; predictive model

冷冻鱼糜是一种加工鱼糜制品的中间原料,通过将原料鱼经过采肉、漂洗、精滤、脱水等一系列工序,并加入磷酸盐、糖类等添加剂,冻结加工制成的产品。鱼糜制品因营养丰富,口味鲜美,价格适宜,食用方便,受到国内外市场和广大消费者的欢迎。但是由于鱼糜中水分、糖、蛋白质等营养成分较高,容易滋生细菌,最终导致鱼糜腐败变质^[1,2]。因此,针对冷冻鱼糜加工过程中可能污染的微生物进行预测十分有必要。

利用预测微生物学可以定量分析不同环境条件下食品中致病菌以及腐败菌的生长或残存状况,从而对食品的质量安全做出快速有效的预测和评估^[3]。金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)是一种重要病原菌,能引起许多严重感染,由金黄色葡萄球菌引起的食物中毒占细菌性食物中毒的 1/3,仅次于大肠杆菌^[4,5]。

目前世界上已建立多种食物致病菌的数据库模型,其中也包括金黄色葡萄球菌。但已建立的模型库中的金黄色葡萄球菌模型大多数是在肉汤培养基中建立起来的,与实际食品中金黄色葡萄球菌的生长速率有较大的差别,从而导致预测结果的准确性会有所降低^[6-9]。同一致病菌,培养基质的不同,基质组织的差异,构建的预测模型亦有所不同^[10],因而冷冻鱼糜中金黄色葡萄球菌预测模型有必要直接以鱼糜为培养基质来构建、评价金黄色葡萄球菌预测模型的统计拟合能力。Logistic 模型、Gompertz 模型、MMF、Richards 模型是 4 种常用的预测模型。Logistic 模型是表现微生物生长与营养物质非线性关系的经验方程,常用于拟合微生物生长。MMF 模型及 Richards 模型是含有四参数的增长曲线模型,对数据的拟合有较强的适应性,应用较为广泛,但是参数估

基金项目:山西省科技攻关项目(编号:20130313028-5)

作者简介:黄潇(1984—),女,山西省分析科学研究院助理研究员,硕士。E-mail:155139638@qq.com

收稿日期:2014-09-16

计较为复杂；而 Gompertz 方程则是双指数函数，Gompertz 模型中的参数被赋予物理含义用来解释微生物的生长参数，该模型使用简单、预测精准，因此被广泛应用于微生物生长预测^[11-14]。

本试验拟以冷冻鱼糜制品为原料，采用 4 种常用的预测模型，结合鱼糜实际生产情况，拟合不同温度下金黄色葡萄球菌在鱼糜中的生长动态，并对 4 种模型的拟合结果进行分析比较，建立不同温度条件下冷冻鱼糜中金黄色葡萄球菌的一级生长预测模型，可预测加工过程中金黄色葡萄球菌的动态变化，并据此指导冷冻鱼糜生产企业控制相关加工过程，减少冷冻鱼糜制品金黄色葡萄球菌污染。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料

金黄色葡萄球菌标准菌株(ATCC13565)；中科院微生物研究所；

金黄色葡萄球菌显色培养基；青岛海博生物技术有限公司。

1.1.2 仪器设备

生化培养箱：BSP-15 型，上海博迅实业有限公司；
立式压力蒸汽灭菌锅：YXQ-LS-75G 型，上海博迅实业有限公司；

超净工作台：SW-CJ-2FD 型，苏州净化设备有限公司。

1.2 试验方法

取 100 g 冷冻鱼糜装入无菌烧杯中，加入 2 mL 浓度 $10^3 \sim 10^4$ CFU/mL 的金黄色葡萄球菌悬液，搅拌均匀，分别置于 10、15、20、25 ℃ 生化培养箱中培养，10、15 ℃ 下每 12 h 计数 1 次，20 ℃ 每 8 h 计数 1 次，25 ℃ 下每 6 h 计数 1 次，显色培养基 37 ℃ 培养 24 h，具体方法参见文献^[15]。

1.3 模型构建及分析比较

1.3.1 一级生长模型的构建 在预测微生物学中，一级模型模型反应的是在一定的环境温度及生长条件下微生物的数量变化与时间变化的关系，从而进一步预测微生物的生长。结合冷冻鱼糜实际生产，选择 4 种常用的一级模型拟合金黄色葡萄球菌在 10、15、20、25 ℃ 的生长数据^[16,17]。各模型方程：

Logistic 模型： $\lg\left(\frac{N_t}{N_0}\right) = \frac{a}{1 + b \exp(-ct)}$ (1)

Gompertz 模型： $\lg\left(\frac{N_t}{N_0}\right) = a \exp[-\exp(b - ct)]$ (2)

MMF 模型： $\lg\left(\frac{N_t}{N_0}\right) = \frac{ab + ct^d}{b + t^d}$ (3)

Richards 模型： $\lg\left(\frac{N_t}{N_0}\right) = \frac{a}{1 + \exp(b - ct)^{\frac{1}{d}}}$ (4)

式中：

N_0 ——初始染菌数，CFU/g；

N_t ——时间为 t 时的菌数，CFU/g；

t ——时间，h；

$a、b、c、d$ ——模型参数。

1.3.2 数据分析 本试验采用残差分析、RSE、RSS 以及 AIC 标准综合考察 4 种模型的拟合能力。RSE 及 RSS 值越小，模型拟合效果越好。AIC 是衡量统计模型拟合优良性的一种标准，选择模型时优先考虑 AIC 值最小的那一个^[18]。

$$RSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (obs - pred)^2}{n - m}}$$
 (5)

$$RSS = \sum_{i=1}^n (obs - pred)^2$$
 (6)

$$AIC = n \ln\left(\frac{RSS}{n}\right) + 2(m + 1) + \frac{2(m + 1) \times (m + 2)}{n - m - 2}$$
 (7)

式中：

n ——试验数据总数；

m ——模型中参数的个数；

obs ——实测值，lg(CFU/g)；

$pred$ ——预测值，lg(CFU/g)；

RSE ——残差标准误差；

RSS ——残差平方和；

AIC ——赤池信息量准则。

2 结果与分析

2.1 金黄色葡萄球菌生长数据拟合

结合冷冻鱼糜实际生产，选取 10、15、20、25 ℃ 构建金黄色葡萄球菌生长预测模型。采用 Logistic、Gompertz、MMF 和 Richards 方程，分别对 10、15、20、25 ℃ 条件下鱼糜中金黄色葡萄球菌的生长数据进行拟合，拟合结果见表 1。

由表 1 可知，在 10~25 ℃ 时，4 种预测模型拟合的相关系数在基本都在 0.98 以上，金黄色葡萄球菌拟合结果较好，生长曲线符合典型的 S 形曲线，说明金黄色葡萄球菌生长动态均能较好利用以上 4 种模型进行拟合。因此，通过简单比较标准差 S 和相关系数 R^2 ，并不能全面评价非线性模型之间的异同及如何优先选择一个模型。

2.2 数据分析

本试验中非线性模型优选主要通过残差分布以及拟合度统计指标的分析、比较，从而整体评价模型对试验数据的拟合能力^[19]。

2.2.1 残差分布比较 由图 1~4 可知，在 10 ℃ 条件下，4 种非线性模型的残差值均围绕零残差线随机分布，说明 4 种曲线拟合性均较好。而相比较而言，Logistic 模型拟合的残差值在 ± 0.3 的范围内波动，分布最为集中，这表明在 10 ℃ 条件下，Logistic 模型能更好地预测冷冻鱼糜中金黄色葡萄球菌的生长状况。而在 15 ℃ 条件下，Gompertz 模型拟合的残差值范围波动较小，分布相对较为集中，这表明在 15 ℃

表 1 冷冻鱼糜中金黄色葡萄球菌 4 种生长模型的拟合参数

Table 1 Fitting parameters of four growth models for *Staphylococcus aureus* in frozen surimi

温度/ ℃	Logistic 模型		Gompertz 模型		MMF 模型		Richards 模型	
	标准差 (S)	相关系数 (R ²)	标准差 (S)	相关系数 (R ²)	标准差 (S)	相关系数 (R ²)	标准差 (S)	相关系数 (R ²)
10	0.087	0.987	0.095	0.984	0.117	0.980	0.093	0.987
15	0.116	0.994	0.110	0.994	0.147	0.992	0.121	0.995
20	0.173	0.992	0.173	0.992	0.212	0.990	0.852	0.992
25	0.287	0.989	0.287	0.989	0.350	0.986	0.311	0.989

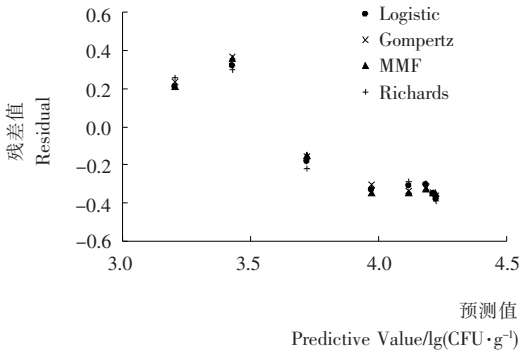


图 1 10 °C 下 4 种模型拟合的冷冻鱼糜中金黄色葡萄球菌数据的相对残差值分布图

Figure 1 Scattergram of relative residuals of four prediction models for *Staphylococcus aureus* growth in frozen surimi at 10 °C

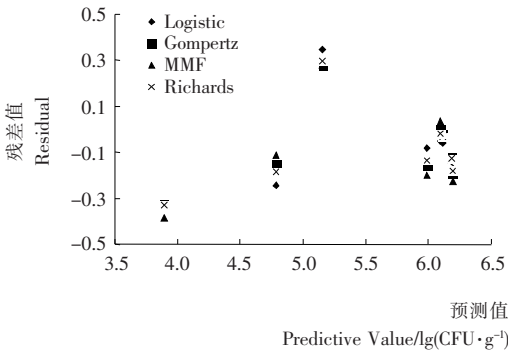


图 3 20 °C 下 4 种模型拟合的冷冻鱼糜中金黄色葡萄球菌数据的相对残差值分布图

Figure 3 Scattergram of relative residuals of four prediction models for *Staphylococcus aureus* growth in frozen surimi at 20 °C

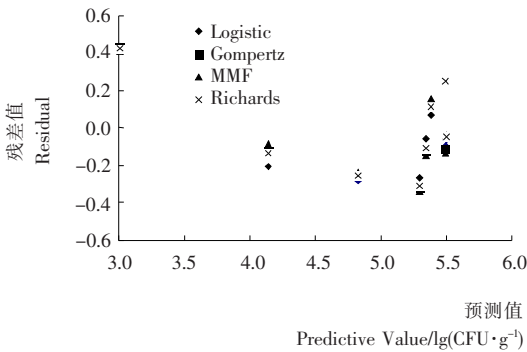


图 2 15 °C 下 4 种模型拟合的冷冻鱼糜中金黄色葡萄球菌数据的相对残差值分布图

Figure 2 Scattergram of relative residuals of four prediction models for *Staphylococcus aureus* growth in frozen surimi at 15 °C

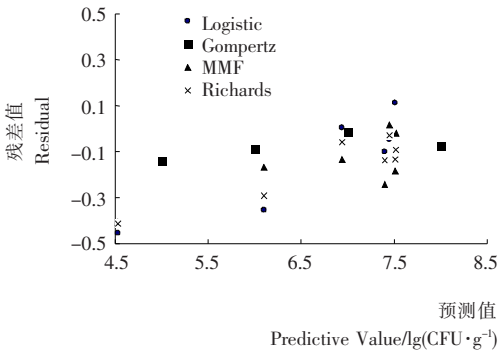


图 4 25 °C 下 4 种模型拟合的冷冻鱼糜中金黄色葡萄球菌数据的相对残差值分布图

Figure 4 Scattergram of relative residuals of four prediction models for *Staphylococcus aureus* growth in frozen surimi at 25 °C

条件下,Gompertz 模型能更准确地预测冷冻鱼糜中金黄色葡萄球菌的生长状况。同样,Gompertz 模型是在 20,25 °C 条件下,预测冷冻鱼糜中金黄色葡萄球菌动态变化的最佳一级生长模型。

2.2.2 拟合度统计指标分析 10,15,20,25 °C 条件下 4 种模型拟合度统计指标的比较分析结果见表 2。

由表 2 可知,10 °C 条件下 Logistic 模型拟合出最小的 RSS、AIC、RSE 值,分别是 0.742,0.352,−4.458;而 Gompertz 模型在 15,20,25 °C 条件下拟合出最小的 RSS、AIC、RSE 值,分别是 0.403,0.259,−9.961;0.285,0.239,−13.089 和 0.273,0.234,−13.473。通过残差分布和拟合度统计指标的分析比较,可以认为冷冻鱼糜中金黄色葡萄球

表 2 4 种模型拟合的统计指标的分析比较

Table 2 Analysis and comparative between statistical parameters of the four growth models				
温度/℃	模型	RSS	RSE	ACI
10	Logistic	0.742	0.352	-4.458
	Gompertz	0.775	0.359	-4.069
	MMF	0.784	0.362	8.039
	Richards	0.751	0.354	7.657
15	Logistic	0.405	0.260	-9.907
	Gompertz	0.403	0.259	-9.961
	MMF	0.409	0.261	2.169
	Richards	0.452	0.274	3.068
20	Logistic	0.349	0.264	-11.233
	Gompertz	0.285	0.239	-13.089
	MMF	0.345	0.263	0.641 9
	Richards	0.299	0.245	-0.641
25	Logistic	0.384	0.277	-10.401
	Gompertz	0.273	0.234	-13.473
	MMF	0.312	0.250	-0.246
	Richards	0.314	0.250	-0.212

菌的最佳生长预测模型为:10℃为 Logistic 模型;15,20,25℃适合采用 Gompertz 模型。从以上试验结果可以看出:在构建的 4 种模型中,没有哪个模型可以同时对所有温度下的生长数据均表现出最佳的拟合力^[20],不同的温度条件下,选用的最适生长模型不同。

2.3 金黄色葡萄球菌最适一级生长模型的构建

通过对拟合函数标准差 S 和相关系数 R^2 ,以及 4 种模型拟合的统计指标(RSS、AIC、RSE)的综合比较分析,最终确定不同温度条件下冷冻鱼糜中金黄色葡萄球菌的最佳拟合方程及生长模型。拟合方程见表3,一级生长模型拟合生

表 3 各温度下冷冻鱼糜中金黄色葡萄球菌最适一级生长模型

Table 3 Optimal primary growth model of <i>Staphylococcus aureus</i> in frozen surimi at different temperatures		
温度/℃	模型名称	回归模型
10	Logistic 模型	$\lg\left(\frac{N_t}{N_0}\right) = \frac{1.228}{1 + 13.256\exp(-0.081\ 5t)}$
15	Gompertz 模型	$\lg\left(\frac{N_t}{N_0}\right) = 2.544\exp[-\exp(1.215 - 0.054t)]$
20	Gompertz 模型	$\lg\left(\frac{N_t}{N_0}\right) = 3.088\exp[-\exp(1.526 - 0.124t)]$
25	Gompertz 模型	$\lg\left(\frac{N_t}{N_0}\right) = 4.443\exp[-\exp(1.403 - 0.184t)]$

长曲线见图 5~8。

由图 5~8 可知,10~25℃时,金黄色葡萄球菌生长曲线呈典型的 S 形。10℃时,金黄色葡萄球菌生长比较缓慢,菌落数增加幅度不大,随着温度的增加,金黄色葡萄球菌生长

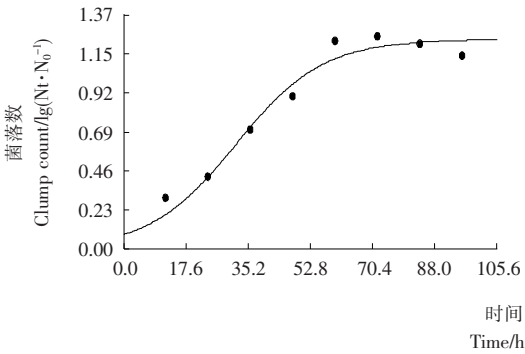


图 5 10℃下金黄色葡萄球菌在冷冻鱼糜中的最适一级生长模型

Figure 5 Optimal primary growth curves of *Staphylococcus aureus* in surimi at 10℃

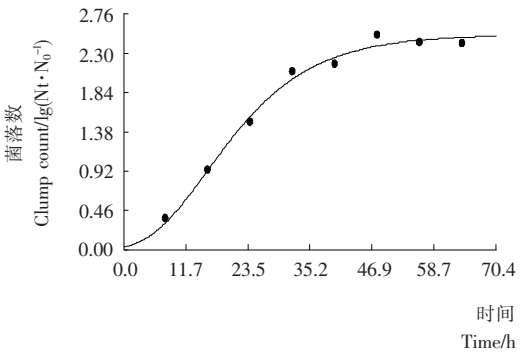


图 6 15℃下金黄色葡萄球菌在冷冻鱼糜中的最适一级生长模型

Figure 6 Optimal primary growth curves of *Staphylococcus aureus* in surimi at 15℃

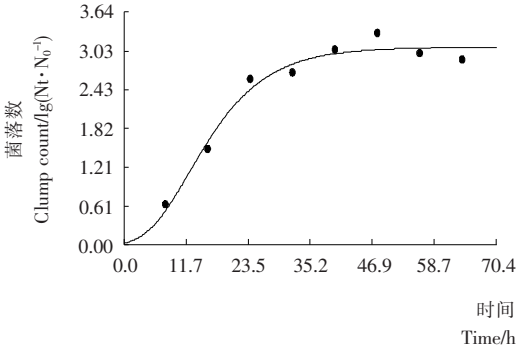


图 7 20℃下金黄色葡萄球菌在冷冻鱼糜中的最适一级生长模型

Figure 7 Optimal primary growth curves of *Staphylococcus aureus* in surimi at 20℃

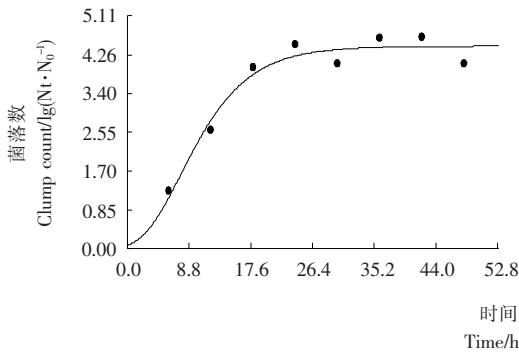


图 8 25 °C 下金黄色葡萄球菌在冷冻鱼糜中的最适一级生长模型

Figure 8 Optimal primary growth curves of *Staphylococcus aureus* in surimi at 25 °C

速度明显增大,迟滞期明显提前。15 °C 时菌体对数最大值比 10 °C 下高出 1 倍;20 及 25 °C 时,金黄色葡萄球菌增长迅速,快速进入稳定期。且进入生长稳定期时,25 °C 时活菌数比 10 °C 增加了 3 个数量级。

3 结论

本试验直接以冷冻鱼糜为研究对象,选用不同的模型对金黄色葡萄球菌生长数据进行拟合,构建不同温度下金黄色葡萄球菌的最适生长预测模型,这为冷冻鱼糜生产企业构建金黄色葡萄球菌预测体系提供了理论基础。单一的生长预测模型不能反应所有温度下金黄色葡萄球菌的动态生长变化,本试验对不同温度下鱼糜中金黄色葡萄球菌的生长数据进行拟合,并进行残差分析及 4 种模型拟合的统计指标(RSS、AIC、RSE)比较分析,结果表明,冷冻鱼糜中金黄色葡萄球菌的最佳生长预测模型分别是:10 °C 为 Logistic 模型,而 15,20,25 °C 适合采用 Gompertz 模型。本试验中构建的生长模型与目前已报道的通过肉汤培养基建立的金黄色葡萄球菌的预测模型有所不同,但所有模型均表明,随着温度的增加,金黄色葡萄球菌增殖速率提高,迟滞期缩短。冷冻鱼糜生产企业可以根据已建立的模型来指导、控制加工过程的温度及时间,抑制金黄色葡萄球菌数的增长,减少金黄色葡萄球菌污染。冷冻鱼糜是一个复杂的体系,在今后的研究中应多结合冷冻鱼糜的实际状况,考虑其他环境因子的影响,使构建的模型更加精确、完善。

参考文献

1 姜英杰. 冷冻鱼糜及鱼糜制品生产工艺技术[J]. 肉类工业,2011(10):12~14.

2 郑晓杰,李燕,卢杰,等. 鱼糜制品真空冷冻干燥工艺优化[J]. 食品与机械,2013,29(1):216~218.

3 Gill C O, Undesr C. Proximate sourees of bacteria on boneless loins prepared from routinely processed and detained carcasses at a pork packing plant[J]. International Journal of Food Microbi-

ology,2004(97):171~178.

4 索玉娟,于宏伟,凌巍,等. 食品中金黄色葡萄球菌污染状况研究[J]. 中国食品学报,2008,8(3):88~93.

5 Loir Y L, Baron F, Gautier M, et al. *Staphylococcus aureus* and food poisoning[J]. Genetics and Molecular Research, 2003, 2(1):63~76.

6 Zwietering M H, Nauta M J. Predictive models in microbiological risk assessment[J]. Modelling Microorganisms in Food,2007(3):110~125.

7 张秋勤,徐幸莲. 预测微生物学在禽肉质量安全控制中的应用[J]. 食品科学,2010,32(13):292~296.

8 Leporq B, Membr J M, Dervin C, et al. The "Sym Previus" software, a tool to support decisions to the foodstuff safety[J]. International Journal of Food Microbiology, 2005, 100(1/3):231~237.

9 李文茹,谢小保,施庆珊,等. 预测微生物学及其在食品科学中的应用[J]. 食品与发酵工业,2009,35(4):136~140.

10 李博,满朝新,赵凤,等. 原料乳中金黄色葡萄球菌生长预测模型的建立[J]. 食品科学,2011,32(15):158~162.

11 张建国,陈晓明,贺新生. 灵芝胞外多糖分批发酵动力学模型[J]. 生物工程学报,2007,23(6):1065~1070.

12 姜颖,徐世明,孙承锋,等. 烤肠中芽孢杆菌生长动力学模型及货架期预测[J]. 食品与机械,2012,28(2):161~164.

13 刘岩,仪淑敏,励建荣,等. 地衣芽孢杆菌在营养肉汤中生长模型的建立[J]. 食品与生物技术学报,2014,33(10):1025~1030.

14 李学英,杨宪时,郭全友. 鲤鱼假单胞菌生长动力学研究和货架期预测[J]. 食品与机械,2011,27(1):56~59.

15 王力卫,雷晓凌,彭镜林,等. 冷冻鱼糜制品中大肠杆菌生长动力学模型的构建[J]. 食品工业科技,2012,33(10):113~116.

16 李文杰,黄和,傅洪锐,等. 模拟蟹肉中金黄色葡萄球菌生长模型的建立[J]. 食品与发酵工业,2008,34(12):10~12.

17 王力卫,雷晓凌,彭镜林,等. 鱼糜制品沙门氏菌生长模型建立[J]. 食品工业,2011(12):72~74.

18 Motulsky H J, Chrisstopoulos A. Fitting models to biological data using linear and nonlinear regression[M]. San Diego: A Practical Guide to Curve Fitting, GraphPad Software, 2003.

19 牛会敏,李苗云,赵改名,等. 低温条件下冷却猪肉中假单胞菌生长模型的比较分析[J]. 食品科学,2013,34(5):142~146.

20 Baty F, Deligenette-Muller M L. Estimating the bacterial lag time: which model, which precision? [J]. International Journal of Food Microbiology, 2004(91):261~277.